

Best Available Copy

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
27 novembre 2003 (27.11.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 03/097238 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : B01L 3/02 (74) Mandataires : CABINET ORES etc.; 36, rue de St Petersbourg, F-75008 PARIS (FR).

(21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR03/01481 (81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international : 15 mai 2003 (15.05.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité : 02 06016 16 mai 2002 (16.05.2002) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75794 PARIS (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : BERGAUD, Christian [FR/FR]; 151, Avenue de Castres, F-31500 TOULOUSE (FR). GUIARDEL, Matthieu [FR/FR]; 1, rue Albert Mamy, F-31500 TOULOUSE (FR). BELAUBRE, Pascal [FR/FR]; Appt 85 - Bloc, 115-117, rue Bonnat, F-31400 TOULOUSE (FR). BELIER, Benoît [FR/FR]; Résidence l'Ilot des cours Bâtiment D, 8, Allée Pierre Delarue Nouvelière, F-91400 ORSAY (FR). POURCIEL, Jean-Bernard [FR/FR]; 13, Avenue de Gameville, F-31650 ST-ORENS DE GAMEVILLE (FR).

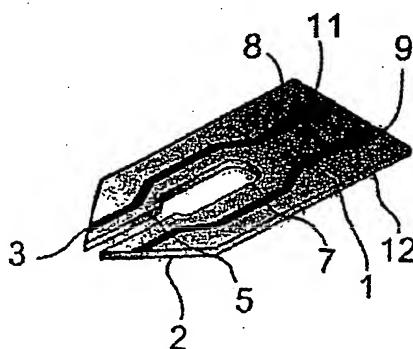
(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :
— avec rapport de recherche internationale
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont requises

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: DEVICE FOR THE ACTIVELY-CONTROLLED AND LOCALISED DEPOSITION OF AT LEAST ONE BIOLOGICAL SOLUTION

(54) Titre : DISPOSITIF DE DÉPÔT LOCALISÉ ET CONTRÔLE ACTIVEMENT D'AU MOINS UNE SOLUTION BIOLOGIQUE.



(57) Abstract: The invention relates to a device for the actively-controlled deposition of microdrops of biological solutions. The inventive device consists of at least one flat silicon lever (1) comprising a central body and an end area (2) which forms a point (3), a slit or groove (5) being disposed in said point. The invention is characterised in that it also comprises at least one metallic track (8, 9) which is disposed on one face of the central body and which runs alongside said slit or groove (5) at least partially. The invention also relates to a method of producing the inventive device and a method for the actively-controlled deposition and sampling of microdrops of biological solutions using said device.

WO 03/097238 A1

Résumé : L'invention concerne un dispositif pour le dépôt contrôlé activement de microgouttes de solutions biologiques, comportant au moins un lèvier plan (1) en silicium présentant un corps central et une région d'extrémité (2) formant une pointe (3) dans laquelle est ménagée une fente ou une rainure (5), caractérisé en ce qu'il comporte également au moins une piste métallique (8, 9) ménagée sur une face du corps central et longeant au moins partiellement une dite fente ou rainure (5). L'invention concerne également un procédé de fabrication de ce dispositif ainsi qu'un procédé de prélèvement et de dépôt contrôlé activement de microgouttes de solutions biologiques mettant en œuvre ledit dispositif.

DISPOSITIF DE DEPOT LOCALISE ET CONTROLE ACTIVEMENT D'AU MOINS UNE SOLUTION BIOLOGIQUE.

La présente invention a pour objet un dispositif de dépôt localisé et contrôlé activement d'au moins une solution biologique sous forme de micro-gouttes.

Dans l'industrie pharmaceutique, les investissements liés à la recherche pour le développement de nouveaux médicaments occupent une place considérable dans le budget des entreprises.

De nouvelles méthodes d'analyse sont nécessaires pour 10 réduire le coût de ces recherches.

L'arrivée des micro-puces dans le biomédical a révolutionné les domaines du développement de médicament et de la bio-analyse.

Les avantages de ces micro-puces sont les suivants :

15 - elles permettent de développer de nouvelles méthodes plus sensibles de détection,

- elles nécessitent des volumes plus faibles de réactifs d'où un moindre coût,

- elles permettent aux processus analytiques d'être plus rapides compte tenu de leurs faibles dimensions,

20 25 diagnostic du fait du grand nombre de solutions différentes présentes sur une même surface.

Cependant, les outils qui sont actuellement opérationnels pour distribuer de faibles volumes de matière biologique en solution, 30 permettent de déposer sur des lames de verre ou sur des membranes des gouttes de l'ordre de la centaine de microns de diamètre (ce qui correspond à un volume de goutte de l'ordre du nanolitre). Ces systèmes reposent :

- soit dans un premier cas sur un dispositif actif piézo-électrique réalisant l'aspiration et l'éjection des produits en solution (système de dépôt sans contact) ;

35 - soit dans un deuxième cas sur un mécanisme passif constitué d'aiguilles fendues, en métal (acier inoxydable, tungstène...), l'aspiration du liquide se faisant dans ce deuxième cas par capillarité, et son dépôt étant obtenu par contact de l'extrémité de l'aiguille sur une lame de verre (système de dépôt par contact). Signalons également le système « pin and ring » (aiguille et anneau) dont le principe de fonctionnement est

comparable à celui utilisé avec le mécanisme constitué d'aiguilles fendues, l'anneau faisant office de réservoir de liquide dans ce cas.

On connaît d'autres techniques de dépôt qui ont fait l'objet d'études en laboratoire et qui permettent d'atteindre des volumes inférieurs à ceux obtenus avec des outils opérationnels mentionnés ci-dessus.

Une de ces techniques est la lithographie à la plume ("Dip-pen lithography") qui est une technique dérivée de la microscopie à force atomique et qui permet de former des motifs sur une surface en utilisant un effet de diffusion par transport moléculaire au niveau du ménisque d'eau qui se forme entre la pointe d'un microscope à force atomique et la surface sur laquelle est effectué le dépôt. Le principe de fonctionnement repose sur la différence des propriétés d'hydrophilie ou de mouillabilité de la pointe et de la surface. La surface doit être en effet plus hydrophile que la pointe pour générer une diffusion moléculaire de la pointe vers la surface. La résolution obtenue peut être inférieure au micron et il est également possible d'envisager le dépôt de molécules biologiques différentes mais cela suppose d'effectuer un changement de la pointe (qui aura été au préalable immergée dans la solution à déposer) pour chaque solution. Cette technique de dépôt est donc extrêmement coûteuse en temps si on désire effectuer plusieurs dizaines de dépôts différents. D'autre part, le changement de la pointe du microscope ne permet pas de conserver la précision d'alignement entre deux changements. Enfin, cette approche ne peut être mise en œuvre que dans des conditions d'humidité élevée pour qu'il y ait formation du ménisque d'eau.

Cette technique est décrite en particulier dans les articles suivants :

« Dip-pen Nanolithography » R. D. Piner, J. Zhu, F. Xu, S. Hong, C. A. Mirkin, Science, vol. 283, Pages 661 – 663, 29 Janvier 1999.

“Multiple Ink Nanolithography : toward a Multiple-Pen Nano-Plotter”, S. Hong, J. Zhu, C. A. Mirkin, Science, vol. 286, Pages 523 – 525, 30 Octobre 1999.

« Surface organization and nanopatterning of collagen by dip-pen nanolithographie »; Wilson, D.L. ; Martin, R; Hong, S; Cronin-Golomb, M; Mirkin, C A; Kaplan, D L, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Volume 98, Issue 24, 20 Novembre, 2001, 35 Pages 13660 – 13664.

"Dip-Pen nanolithography on semiconductor surfaces", Ivanisevic, A; Mirkin, C A. *Journal of the American Chemical Society*, Volume 123, Issue 32, 15 Août, 2001, Pages 7887 – 7889.

5 D'autres microsystèmes ont été également proposés pour effectuer des dépôts pour la fabrication de biopuces. Il s'agit en général de structures microfluidiques, par exemple celui qui est décrit dans l'article suivant :

10 « Micromachined needle arrays for drug delivery or fluid extraction », *IEEE Engineering in Medecine and Biology Magazine: the Quarterly Magazine of the Engineering in Medicine & Biology Society*, Volume 18, Issue 6, Novembre – Décembre 1999, Pages 53 – 58 Brazile, J; Papautsky, I; Frazier, A B.

15 Il s'agit de structures en silicium micro-usinées présentant des canaux microfabriqués, et leur utilisation est en tout point comparable à celle d'un système à jet d'encre. Ces structures « fermées », en forme de tube, sont très difficiles à nettoyer, ce qui constitue un obstacle à l'utilisation d'un même dispositif pour déposer des gouttelettes de liquides différentes.

20 La demande de brevet internationale WO 02/00348 illustre un système de dépôt qui permet de déposer des microgouttes d'un volume compris entre 10 picolitres et 200 nanolitres. Un tel système est constitué par au moins un levier en silice ou en quartz équipé d'un canal capillaire et d'un réservoir. Le chargement et le dépôt du liquide se font de manière purement passive, par effet de la capillarité et de la différence de mouillabilité entre le dispositif et la surface de dépôt.

25 Des micropipettes permettant un dépôt sans contact, par effet de champ sont décrites en particulier dans les documents suivants :

30 « Electrospray deposition as a method for mass fabrication of mono and multicomponent microarrays of biological and biologically active substances », Morozov, V N ; Morozova T. Ya., *Analytical Chemistry*, Volume 71, Issue 15, 1 Août, 1999, Pages 3110 – 3117.

35 "Atomic force microscopy of structures produced by electrospraying polymer solutions", Victor N. Morozov, Tamara Ya Morozova and Neville R. Kallenbach, *International Journal of Mass Spectrometry*, Volume 178, Issue 3, 9 Novembre 1998, Pages 143 – 159.

Ces dispositifs exploitent l'effet d'électronébulisation (« electrospray ») pour effectuer un dépôt contrôlé par un champ électrique

réglable de très petites quantités de molécules organiques. Cependant, l'électronébulisation consiste à appliquer un champ électrique suffisamment élevé pour ioniser et atomiser le liquide à déposer. Les gouttelettes ainsi produites ont des dimensions sub-micrométriques et s'évaporent avant 5 d'attendre la surface de dépôt ; de cette façon, des films fins sont produits. Il s'agit donc d'un problème différent de celui visé par la présente invention, c'est à dire le dépôt de gouttelettes d'un volume de l'ordre du picolitre ou du femtolitre. De plus, les dispositifs pour électronébulisation sont constitués de micropipettes contenant un électrode en forme d'aiguille, ils ne peuvent donc 10 pas être lavés efficacement et doivent être remplacé à chaque fois qu'on change de liquide.

Des travaux concernant le mouillage de surface sous l'effet d'un champ électrique et le déplacement d'un liquide par contrôle actif de la mouillabilité d'une surface ont été publiés dans les articles suivants :

15 « Electrowetting and electrowetting-on-dielectric for microscale liquid handling », J. Lee, H. Moon, J. Fowler, T. Schoellhammer, C.J. Kim, Sensors and Actuators, A 95, Pages 259 – 268, 2002.

20 « Dielectrophoretic liquid actuation and nanodroplet formation », T.B. Jones, M. Gunji, M. Washizu, M. J. Feldman, Journal of Applied Physics, Vol 89, N° 2, Pages 1441 – 1448, 2001.

25 Ces articles décrivent les principes physiques de l'électromouillage et de la diélectrophorèse, ainsi que leur application à la manipulation de gouttelettes de liquides tels que l'eau. Bien que ces effets soient connus depuis plusieurs décennies, ils n'ont jamais été appliqués au dépôt de gouttelettes de liquides.

En conclusion, aucun système de dépôt n'a encore été proposé qui permette de déposer de manière précise (par rapport à une référence) et contrôlée activement des microgouttes de diamètre inférieur à 10 microns, c'est à dire de volume inférieur au picolitre (pl).

30 A fortiori, aucun système de dépôt connu ne permet de déposer de manière précise et contrôlée activement de telles gouttes sur des microstructures de type pont, poutre ou membrane.

35 La présente invention permet d'atteindre ces objectifs par l'utilisation, comme système de dépôt, d'une ou plusieurs micro-leviers en silicium comportant au moins un électrode permettant de manipuler le liquide à déposer par des effets électrostatiques.

Un objet de l'invention est un dispositif de dépôt permettant un dépôt localisé précis et contrôlée activement de microgouttes, en particulier de diamètre inférieur à 10 microns, et plus particulièrement de diamètre de l'ordre d'1 micron.

5 Un autre objet de l'invention est un dispositif de dépôt permettant un dépôt localisé précis et contrôlée activement de microgouttes sur des microstructures telles que des ponts, des poutres ou des membranes.

Un autre objet de l'invention est un dispositif de dépôt permettant de déposer des molécules biologiques différentes.

10 Un autre objet de l'invention est un dispositif de dépôt permettant de déposer des microgouttes sans contact avec la structure ou la microstructure sur laquelle s'effectue le dépôt.

15 Un autre objet de l'invention est un dispositif de dépôt permettant de déposer des microgouttes par contact avec une structure ou une microstructure, dans des conditions qui conservent l'intégrité de la structure ou de la microstructure.

20 Au moins un des objectifs précités est atteint à l'aide d'un dispositif de dépôt de solutions biologiques comportant au moins un levier plan en silicium présentant un corps central et une région d'extrémité formant une pointe dans laquelle est ménagée une fente ou une rainure, caractérisé en ce qu'il présente au moins une piste métallique ménagée sur une face du corps central et longeant au moins partiellement une dite fente ou rainure.

25 Ladite fente ou la rainure s'étend avantageusement depuis ladite pointe jusqu'à un réservoir ménagé dans le corps central.

Avantageusement, ladite ou lesdites pistes métalliques longent au moins partiellement ledit réservoir.

Selon un mode de réalisation du dispositif, le réservoir est une cavité non débouchante ménagée à partir d'une face principale du corps central.

30 Selon un autre mode de réalisation, le réservoir est constitué par une ouverture débouchante ménagée entre deux faces principales opposées du corps central.

Une dite fente ou rainure et/ou un dit réservoir et/ou une dite piste métallique est éventuellement revêtu de SiO₂.

Le levier présente avantageusement au moins une région hydrophobe en silicium ou bien en oxyde de silicium revêtu de silane hydrophobe.

Avantageusement, le dispositif présente au moins une 5 piézorésistance implantée.

Avantageusement le, ou chaque, levier présente au moins un actionneur intégré permettant de contrôler sa flexion.

Selon un mode préféré de réalisation, ledit actionneur comporte une couche piézoélectrique déposée sur une surface dudit levier.

Selon un autre mode préféré de réalisation, ledit actionneur 10 comporte une bilame métallique et une résistance de chauffage déposée sur une surface dudit levier.

L'invention concerne également un procédé de fabrication du dispositif tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il met en œuvre :

15 a) au moins un dépôt d'oxyde de silicium sur une face avant d'un substrat silicium sur isolant présentant une couche isolante enterrée,

b) la réalisation pour chaque levier d'au moins une piste métallique.

20 c) au moins une attaque chimique ou gravure ionique par la face avant du substrat silicium pour définir le contour des leviers, et au moins une fente ou rainure, le contour des leviers étant défini par attaque chimique ou gravure ionique jusqu'à la couche isolante enterrée,

25 d) une attaque chimique ou gravure ionique par la face arrière du substrat pour enlever y compris la couche isolante enterrée et libérer au moins un levier.

Le procédé peut être caractérisé en ce que b comporte également :

b1) un deuxième dépôt d'oxyde sur la face avant pour isoler au moins une piste métallique.

30 Le procédé peut être caractérisé en ce que c comporte une attaque chimique ou gravure ionique jusqu'à la couche isolante enterrée pour définir, outre le contour des leviers, une fente et/ou une ouverture débouchante constituant un réservoir pour au moins un levier.

35 Le procédé peut être caractérisé en ce que c comporte une première attaque chimique ou gravure ionique du substrat qui est arrêtée avant la couche isolante enterrée pour définir au moins une rainure et/ou une

cavité non débouchante formant un réservoir, pour au moins un levier et une deuxième attaque chimique ou gravure ionique du substrat, jusqu'à la couche isolante enterrée pour définir au moins le contour des leviers.

La première attaque chimique ou gravure ionique peut être 5 effectuée de telle sorte que le contour des leviers soit défini sur une partie de leur épaisseur.

Avantageusement, avant a, il est prévu une étape d'implantation d'au moins une piézorésistance.

10 Avantageusement, le procédé comporte également une étape de dépôt d'un actionneur intégré.

Selon un mode préféré de réalisation, ladite étape de dépôt d'un actionneur intégré comporte le dépôt par pulvérisation cathodique d'un film piézoélectrique de $PbZrO_3/PbTiO_3$.

15 Ledit film piézoélectrique est avantageusement isolé du liquide par une couche en un matériau choisi entre : oxyde de silicium, PTFE dit « Téflon », un polymère.

20 Selon un autre mode préféré de réalisation, ladite étape de dépôt d'un actionneur intégré comporte le dépôt chimique à basse pression (LPCVD) d'une couche de Si_3N_4 suivie par un dépôt par évaporation d'une couche de Cr et d'une couche de Au pour réaliser une résistance de chauffage, formant ainsi une bilame métallique.

25 L'invention concerne également un procédé de prélèvement d'au moins une solution biologique utilisant un dispositif tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que le prélèvement et la rétention de ladite solution biologique sont assistés par effet de champ électrique en appliquant une différence de potentiel entre les dites pistes métalliques.

30 Dans le cas où un dispositif comportant une piézorésistance est utilisé, avantageusement une mesure de la variation de la résistance électrique de ladite piézorésistance est effectuée après le prélèvement pour déterminer la quantité de solution biologique prélevée.

35 L'invention concerne également un procédé de dépôt d'au moins une solution biologique utilisant un dispositif tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que le dépôt de ladite solution biologique est assisté par effet de champ électrique en appliquant une différence de potentiel entre lesdites pistes métalliques, qui sont maintenues au même potentiel, et une surface de dépôt comportant au moins une couche conductrice.

Dans le cas où un dispositif comportant une piézorésistance est utilisé, avantageusement une mesure de la variation de la résistance électrique de ladite piézorésistance est effectuée après le dépôt pour déterminer la quantité de solution biologique déposée.

5 L'invention concerne également un procédé de dépôt d'au moins une solution biologique utilisant une rangée de dispositifs tels que définis ci-dessus, comportant chacun une piézorésistance et un actionneur intégré, caractérisé en ce que la force de contact de chaque levier avec la surface de dépôt est déterminée par une mesure de la variation de la 10 résistance électrique de chaque piézorésistance implantée et contrôlée activement par chaque actionneur intégré.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture de la description ci-après en liaison avec les dessins annexés dans lesquels :

15 - les figures 1A et 1B, 2A et 2B, 3A et 3B, et 4A et 4B illustrent des variantes de levier selon l'invention,

- la figure 5 illustre une vue en coupe VI-VI d'une variante de levier présentant une piézorésistance intégrée ;

20 - les figures 6A et 6B illustrent une vue en coupe VI-VI de deux autres variantes de levier présentant un actionneur intégré ;

- les figures 7A et 7B illustrent un dispositif constitué par un ensemble de leviers identiques formant une rangée.

25 - les figures 8A à 8J illustrent un procédé de fabrication de leviers selon l'invention.

- et les figures 9A-9D illustrent les différents procédés de chargement et de dépôt d'un liquide.

30 Comme on peut voir sur les figures 1A-4B les leviers sont de préférence de forme rectangulaire (corps central 1) terminée par une extrémité triangulaire 2 formant une pointe 3. Une rainure 4 ou une fente 5 au centre des leviers, débouchant à la pointe 3, forme un canal pour le liquide. Un réservoir 6 ou 7 de forme rectangulaire peut être inséré en terminaison supérieure du canal 4 ou 5. Deux pistes métalliques 8 et 9 longent le canal 4 ou 5 et/ou le réservoir 6 ou 7.

35 Les dimensions géométriques des leviers peuvent être les suivantes :

Longueur du levier : 1 à 2 mm

Largeur : 100 μ à 300 μ , par exemple 210 μ
 Epaisseur : 1 à 20 μ (selon l'épaisseur du
 substrat SOI de départ)
 Intervalle entre leviers : 450 μ m (par exemple)
 5 Longueur du canal :
 200 à 400 μ et par exemple 250 μ m (lorsqu'un réservoir est dessiné)
 200 à 1000 μ , et par exemple 550 μ m (sans réservoir)
 Largeur du canal : 2 à 20 μ m, par exemple 5 μ m
 Longueur du réservoir : 200 à 600 μ m, et par exemple
 10 250 μ m
 Largeur du réservoir : 50 à 150 μ m, et par exemple 80 μ m
 Largeur des pistes conductrices : 1 à 40 μ m, et par exemple
 20 μ m.

Le canal peut être une rainure 4 ménagée sur une partie de
 15 l'épaisseur du levier partir d'une surface 11 ou une fente traversante 5 qui
 s'étend entre les faces 11 et 12. Le canal peut communiquer avec un
 réservoir non débouchant constitué par une cavité 6 ménagée à partir d'une
 face principale 11 du corps central 1 du levier, ou bien avec un réservoir
 débouchant 7 constitué par une ouverture 7 ménagée entre les faces
 20 principales 11 et 12 du corps central 1.

Les figures 1A et 1B illustrent le cas d'une fente 5, les figures
 2A et 2B, d'une fente 5 et d'un réservoir débouchant 7, les figures 3A et 3B
 illustrent le cas d'une rainure 4 et d'un réservoir non débouchant 6, et enfin
 les figures 4A et 4B illustrent le cas d'une fente 5 et d'un réservoir non
 25 débouchant 6. Le cas (non illustré) d'un levier présentant une rainure 4 et un
 réservoir débouchant 6 peut également être mis en œuvre.

Les pistes métalliques 8 et/ou 9 longent le réservoir 6 ou 7
 (figures 2A, 2B, 3A, 3B, 4A et 4B) et/ou la rainure 4 (figures 3A, 3B) et/ou la
 fente 5 (figures 1A, 1B, 2A, 2B, 3A et 3B). En variante non représentée, une
 30 seule piste métallique 8 ou 9 peut être présente.

Sur la face arrière des leviers peut être intégré un actionneur,
 constitué par une couche piézoélectrique 38 (figure 6A) ou une bilame
 métallique comportant une couche de Si_3N_4 33, une couche de Chrome 35 et
 une couche d'Or 37 (figure 6B).

35 Sur la face arrière des leviers peut également être intégré une
 piézorésistance 31 (figure 5).

Aussi bien la piézorésistance 31 que l'actionneur 33-35-37 ou 38 sont isolés du liquide par une couche de passivation 32.

Le dispositif selon l'invention permet en particulier :

- a) Une réduction des volumes déposés : les dépôts réalisés 5 avec le présent système ont par exemple un diamètre de l'ordre de 10 microns (picolitre), cette caractéristique étant de plus paramétrable; l'obtention de microgouttes de l'ordre d'1 μm de diamètre (femtolitre) est envisageable et rend le dispositif compatible avec les approches de type nanotechnologie qui voient le jour actuellement (dépôt de gouttes sur des 10 nanocapteurs notamment) ; et
- b) la possibilité de contrôler activement le chargement et le dépôt du liquide via les pistes métalliques 8 et/ou 9, utilisées comme électrodes pour exploiter les effets d'électromouillage, de diélectrophorèse et d'électronébulisation ; et/ou
- c) la possibilité de déposer une grande variété de matériaux 15 biologiques organiques (ADN, protéines, cellules...) ou inorganiques (polymères, résines photosensibles...) et/ou
- d) L'utilisation possible de volumes très faibles donc la réalisation de nombreux points avec le seul chargement de levier (plus d'une 20 centaine de gouttes de 20 microns de diamètre réalisées en un chargement) ; et/ou
- e) La mise en œuvre de dépôts avec ou sans contact sans 25 modification majeure du système (par exemple sans contact pour de l'ADN, des protéines ou des cellules, ou avec contact pour de l'ADN ou des cellules) ; et/ou
- f) la possibilité d'intégrer une piézorésistance servant de jauge de contrainte au niveau des microleviers ce qui permet un contrôle actif de la force et du temps de contact, ainsi que de l'alignement d'une rangée de leviers par rapport à la surface de dépôt lors de la phase de dépôt par contact ; et/ou
- g) la possibilité, grâce audit contrôle actif de la force de contact, d'effectuer des dépôts sur des microstructures, tels que des micro poutres ou des micromembranes ; et/ou
- h) la mesure de la quantité de liquide prélevée et déposée par 35 ladite piézorésistance, fonctionnant comme une balance très sensible ; et/ou

i) La possibilité d'intégrer au levier un actionneur constitué par une couche piézoélectrique ou une bilame métallique avec une résistance chauffante ; et

5 I) Un coût fortement réduit, grâce à l'utilisation de techniques de fabrication collective issues de la microélectronique. ; à titre d'exemple, une aiguille en acier inoxydable du commerce coûte de 300 à 400 \$, alors que les coûts de fabrication d'un microlevier en silicium selon l'invention laissent augurer de prix très nettement inférieurs.

10 Le dépôt sur des microstructures, mentionné au point (g), constitue un avantage important de l'invention, car des tels dispositifs peuvent être utilisés comme détecteurs intégrés de biomolécules. Voir, à ce propos, l'article :

15 « Translating Biomolecular Recognition into Nanomechanics », J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, H. ROTHUIZEN, P. Vettiger, E. Meyer, H.-J. Guentherodt, Ch. Gerber, J. K. Gimzewski, *Science*, Volume 288, Pages 316-318 (2000)

20 ainsi que la demande de brevet français FR 2 823 998.

Concernant l'actionneur mentionné au point (i), il permet de mettre en contact avec la surface de dépôt une partie seulement des leviers 25 constituant une rangée comme celle illustrée par la figure 7A. La figure 7B montre, par exemple, une rangée dans laquelle le premier levier est fléchi vers la surface de dépôt par l'action dudit actionneur intégré, le deuxième est fléchi dans la direction opposée à ladite surface pour éviter le contact et le troisième est laissé dans sa position de repos. Les flèches F1 et F2 indiquent la direction du déplacement de la pointe induit par l'actionneur intégré dans le cas du premier et du deuxième levier respectivement. L'actionnement de microleviers en silicium par des films piézoélectriques ou des bilames métalliques est connu de l'art antérieur, mais il est appliqué pour la première 30 fois à un système de dépôt de microgouttes d'un liquide. Pour plus de précision, voir les articles

« Piezoelectric properties of PZT films for microcantilevers », E. Cattan, T. Haccart, G. Vélu, D. Rémiens, C. Bergaud, L. Nicu, *Sensors and Actuators* 74, Pages 60-64 (1999)

35 en ce qui concerne l'actionnement piézoélectrique et

« Micromachined arrayed dip-pen nanolithography probes for sub-100 nm direct chemistry patterning », D. Bullen, X. Wang, J. Zou, S.

Hong, S.-W. Chung, K. Ryu, Z. Fan, C. Mirkin, C. Liu, IEEE The Sixteenth International Conference On Micro Electro Mechanical Systems, 19-23 Janvier 2003, Kyoto, Japon, Pages 4-7

pour l'actionnement thermomécanique (bilame).

5 Le procédé de fabrication de leviers pour le dépôt repose sur les techniques de fabrication collective de la microélectronique. Une série d'étapes technologiques est réalisée sur un substrat de silicium sur isolant (SOI : *Silicon On Insulator*).

10 La première partie du procédé comprend une succession d'élaborations de couches minces (figures 8A et 8C), et la deuxième partie consiste en une suite de micro-usinages afin de définir les leviers.

15 La première étape (figure 8A) est un dépôt d'oxyde 22 de silicium par LPCVD (*dépôt chimique en phase vapeur à basse pression*), sur la face avant 21 d'un substrat 20 en silicium présentant une couche d'oxyde enterrée 30. La couche d'oxyde 22 sert d'isolant entre le substrat et les métallisations suivantes.

20 Lors de l'étape de la figure 8B, un sous-décapage ("lift-off") permet de réaliser les pistes métalliques 25, à savoir une photolithographie suivie d'un dépôt métallique 25 par évaporation puis d'un retrait de la résine (qui a servi au masquage des régions métallisées) dans l'acétone et avec 25 application d'ultrasons, et enfin un recuit de la métallisation.

La dernière étape de la partie couches minces est un deuxième dépôt localisé 26 d'oxyde de silicium (figure 8C) par LPCVD pour isoler les métallisations du liquide lors de l'utilisation des leviers, suivi d'une photolithographie pour accéder aux plots de contacts des métallisations par attaque chimique de l'oxyde de silicium.

30 Pour débuter le micro-usinage, une photolithographie face avant dans la couche de silicium 27 permet de définir les contours des leviers. Une première gravure plasma (gravure ionique réactive ou RIE) est alors réalisée pour l'oxyde de silicium puis une seconde gravure plasma est réalisée pour le silicium monocristallin (figure 8D).

35 Enfin, une dernière photolithographie à partir de la face arrière 28 de la plaquette, suivie d'une gravure ionique réactive profonde (DRIE) de la couche de silicium 29 sont réalisées pour libérer les leviers (figure 8E). La gravure plasma est stoppée par la couche d'arrêt 30 d'oxyde de silicium du SOI. Une gravure ionique réactive de cet oxyde 30 est

finalement réalisée – toujours par la face arrière – pour terminer de libérer les structures.

5 Lors de la gravure des profils des leviers, plusieurs possibilités sont réalisables selon le profil désiré. Pour des leviers à canal débouchant (fente 5 traversant toute l'épaisseur du levier) avec ou sans réservoir, une seule étape suffit (comme représenté à la figure 8D) en arrêtant la gravure du silicium sur la couche d'oxyde du substrat sur oxyde SOI.

10 Cependant, pour la gravure de structures non débouchantes (rainure 4 ou cavité 6), deux photolithographies suivies de gravures doivent être réalisées consécutivement. La première, définissant le canal 4 et/ou le réservoir 6, doit être arrêtée avant d'arriver sur la couche d'oxyde intermédiaire du substrat SOI. Il faut alors compléter cette étape par une photolithographie et une gravure des seuls contours externes des leviers jusqu'à la couche d'oxyde intermédiaire du substrat SOI.

15 L'implantation éventuelle d'au moins une piézorésistance, disposée par exemple longitudinalement dans le corps 1 du levier, peut être effectuée avant l'étape figure 8A. Un oxyde mince est tout d'abord réalisé avant l'implantation de dopants dans le silicium. L'épaisseur de cet oxyde, la dose et l'énergie du dopage doivent être choisis pour obtenir une sensibilité 20 maximale de la piézorésistance. Ensuite l'oxyde (figure 8A) est déposé puis ouvert par attaque chimique au niveau des contacts de la piézorésistance et un dépôt métallique est réalisé (figure 8B) par un décapage, qui prend en compte les pistes servant d'électrodes et les pistes pour les piézorésistances. Le procédé de fabrication se poursuit ensuite comme précédemment.

25 Une ou plusieurs piézorésistances implantées sur au moins certains des leviers permettent de disposer d'une ou plusieurs jauge de contrainte dont la variation de résistance permet de détecter en particulier le contact du levier avec une surface. Ceci permet notamment d'assurer un réglage de la coplanarité des leviers lors d'un dépôt collectif.

30 Eventuellement, une pellicule piézoélectrique 30, par exemple constituée d'un mélange de $PbZrO_3$ et $PbTiO_3$ dans un rapport 54/46 peut être déposée par pulvérisation cathodique (« sputtering »), comme décrit dans :

35 « PZT Polarization effects on off-centered PZT patch actuating silicon membranes », M. Guirardel, C. Bergaud, E. Cattan, D. Remiens, B. Belier, S. Petitgrand, A. Bosseboeuf, 16th European Conference

on Solid State Transducers (EUROSENSORS XVI), Prague (Rép. Tchèque), 15-18 Septembre 2002, Pages 697-700.

Le dépôt peut être effectué par exemple sur la face arrière du levier, comme illustré par la figure 8F. Alternativement, il peut être effectué sur la couche d'oxyde 26 qui couvre les pistes métalliques 25 comme illustré par la figure 8G. En tout cas, l'actionneur piézoélectrique doit être isolé du liquide par une couche 32 d'oxyde ou de tout matériau permettant d'assurer une isolation efficace : PTFE dit « Téflon », polymère (PDMS, résine...). Voir à ce propos les articles suivants :

10 « Tapping mode atomic force microscopy in liquid with an insulated piezoelectric microactuator » B. Rogers, D. York, N ; Wishman, M. Jones, K. Murray, D. Adams, T. Sulchek, S. C. Minne, Review of Scientific Instruments 73, pages 3242-3244 (2002) et

15 « High-speed atomic force microscopy in liquid », T. Sulchek, R. Hsieh, S. C. Minne, C. F. Quate, D. M. Adderton, Review of Scientific Instruments 71, pages 2097-2099 (2000).

20 Alternativement, l'actionneur peut être constitué par une bilame métallique. Les figures 8H-8L montrent les différentes étapes de réalisation d'un tel dispositif. Premièrement, une couche 33 de Si_3N_4 est déposée par un procédé de dépôt chimique de vapeur à basse pression (LPCVD) (figure 8H) ; ensuite une couche 35 de Chrome (figure 8I) et une couche 37 d'Or pour constituer la résistance chauffante (figure 8L), formant ainsi une bilame, sont déposées par évaporation thermique. Une couche de silicium polycristallin dopé peut être également utilisée comme résistance chauffante. Suivent une étape de lithographie pour définir les contours de ces éléments, le dépôt d'une couche d'oxyde isolant et réalisation des contacts électriques de la résistance de chauffage.

25 Les pistes métalliques constituent le cœur de l'invention, car elles permettent de contrôler la montée du liquide dans la fente ou rainure lors du remplissage du dispositif, et sa descente lors du dépôt par effet de champ.

30 Une première technique, dite diélectrophorèse et proposée par Jones et collaborateurs (voir document cité ci-dessus), consiste à utiliser un champ électrique alternatif pour confiner un liquide polarisable (eau par exemple) dans des zones de fort champ électrique (l'utilisation d'un champ continu est possible, mais peut induire des effets gênants, tels que

l'électrolyse du liquide ou l'endommagement de biomolécules). Ce champ étant créé entre deux électrodes isolées et coplanaires, le liquide se « plaque » littéralement sur les électrodes. Un effet tout à fait similaire, mais dont l'origine physique est différente, se produit pour des liquides 5 conducteurs. Par ailleurs, il est important de considérer qu'un liquide peut être « conducteur » ou « diélectrique » en fonction de la fréquence du champ électrique qui lui est appliqué. Si, dans l'intervalle de fréquences considéré, le liquide constitue un diélectrique, les électrodes peuvent ne pas être revêtus d'isolant. Une autre technique, connue sous le nom d'électromouillage, 10 permet de modifier les propriétés de mouillabilité d'une surface (angle de contact entre la surface et le liquide) par l'application d'une différence de potentiel entre ladite surface et le liquide, et de contrôler ainsi les effets de capillarité. Si une différence de potentiel de quelques Volt à 10 V est appliquée entre les électrodes et une surface conductrice, l'effet de champ 15 peut induire un dépôt sans contact. Une différence de potentiel plus élevée (au delà du kV) peut induire électronébulisation.

Plusieurs traitements de surface peuvent être réalisées sur les leviers pour les rendre hydrophiles ou hydrophobes afin d'optimiser le comportement du liquide déposé sur la surface.

20 Il est possible tout d'abord jouer sur les matériaux dérivés du silicium connaissant leurs propriétés : l'oxyde de silicium est ainsi utilisé comme composé hydrophile et le silicium monocristallin est utilisé comme matériau hydrophobe.

Cependant, le silicium ayant tendance à s'oxyder 25 naturellement en surface (présence d'un oxyde natif), il peut être nécessaire de réaliser un traitement chimique de surface. Un tel traitement consiste par exemple en une accroche de silane hydrophobe, par exemple un silane ayant un groupement méthyl ou fluoré comme terminaison, qui est déposé sur de l'oxyde de silicium. Ce composé se dépose sur de l'oxyde de silicium sous 30 forme de monocouches auto-assemblées et a l'avantage d'être fortement hydrophobe.

Inversement, les techniques de créations de charges rémanentes dans l'oxyde par technique d'implantation ou d'irradiation (par rayons X par exemple) sont envisageables pour augmenter les propriétés de 35 mouillabilité ou d'hydrophilie de la couche de passivation (couche d'oxyde froid par exemple).

Dans un mode préféré de réalisation de la présente invention, la surface du dispositif est rendue fortement hydrophobe et le chargement du liquide est effectué grâce aux effets de diélectrophorèse et d'électromouillage mentionnés ci-dessus. De cette façon, le nettoyage du dispositif est facilité et 5 le dépôt de plusieurs liquides différents sans contamination est rendu possible.

Un micro-robot trois axes (X, Y, Z) permet d'utiliser les microleviers selon l'invention pour les phases de remplissage et de dépôt.

Il s'agit, pour la phase de chargement, de plonger les 10 microstructures dans un réservoir contenant la solution à déposer et de remplir les micro-canaux par effet de champ, éventuellement assisté par la capillarité.

Pour la phase de dépôt, le micro-robot permet de positionner 15 les microstructures très précisément par rapport à une surface destinée à recevoir le dépôt. Le dépôt s'effectue alors par contact direct avec la surface ou par effet de champ sans contact. La technique de dépôt par électro-nébulisation (« electrospray ») est également envisageable dans la mesure où le champ appliqué est suffisamment important pour générer une nébulisation et une atomisation des biomolécules.

Le robot est par exemple un robot trois axes X, Y, et Z 20 disponible dans le commerce, avec un pas de 50 nanomètres, largement compatible avec un diamètre de dépôts à réaliser de l'ordre de 10 à 20 microns. Cette précision permet un contrôle fin du contact levier-surface de dépôt, donnant ainsi une meilleure homogénéité volumique des spots réalisés. Une amélioration ultérieure du contrôle de contact est obtenue par 25 l'utilisation d'un actionneur, par exemple piézoélectrique ou thermomécanique, intégré dans la microstructure. De plus, dans le cas d'une rangée de leviers, les actionneurs intégrés permettent de contrôler individuellement le contact de chaque dispositif avec la surface.

Les piézorésistances intégrées permettent de réaliser un 30 asservissement du robot et desdits actionneurs.

Le déplacement selon chaque axe est assuré par un moteur pas à pas. Chaque moteur, alimenté en courant alternatif, est associé à un capteur de position linéaire permettant un asservissement de position en 35 boucle fermée.

L'angle d'incidence, c'est-à-dire l'angle de contact entre le levier et la surface sur laquelle est effectué le dépôt, a une influence notable sur la taille des gouttes déposées. On obtient les résultats les plus satisfaisants avec un angle proche de 60°. Il est à noter que, pendant la 5 phase du contact, cet angle varie de 60° jusqu'à 45° pour une descente du levier après contact de 50 microns (pour la valeur de la distance de descente du levier après contact on adoptera pour la suite le terme de « profondeur de contact »). La force d'appui plus ou moins importante fait ainsi varier le volume de liquide déposé.

10 L'angle est rendu variable grâce à une pièce mobile fixée sur l'axe Z et en rotation par rapport à l'axe Y. Il est possible de contrôler cet angle directement à partir de microcontrôleurs connectés au système de pilotage.

15 Le dépôt peut être réalisé de la manière suivante, comme illustré par les figures 9A-9D.

La première étape (figure 9A) consiste à remplir le canal et le réservoir (lorsqu'il existe) usiné dans l'axe des leviers. Pour ce faire, le logiciel de contrôle permet de positionner les leviers au-dessus du réservoir contenant le liquide à déposer et de les immerger dans ce liquide. Un champ 20 électrique est alors créé par application d'une tension entre les électrodes usinées sur les leviers et le liquide ; les leviers sont ensuite déplacés à l'extérieur du liquide et le robot les positionne au-dessus de l'emplacement du premier dépôt à réaliser.

25 Nous avons alors deux possibilités : soit le robot déplace les leviers contre la surface et le dépôt est réalisé par contact (figure 9B) ; soit le robot positionne les leviers au-dessus de la surface (quelques microns) pour réaliser cette fois un dépôt sans contact (figures 9C et 9D).

30 Dans le cas du dépôt par contact, le volume déposé dépend de la profondeur, de l'angle et du temps de contact. L'effet de champ aussi peut être exploité pour contrôler le volume du dépôt: une diminution du champ électrique entre les pistes conductrices augmente la quantité de liquide déposé, et vice versa. Si une rangée de leviers est utilisée, le dépôt est contrôlé individuellement pour chaque levier grâce aux actionneurs intégrés, qui agissent sur les caractéristiques du contact, et aux électrodes.

35 Dans le cas du dépôt sans contact, une différence de potentiel de quelque volt à 10 V est appliquée entre les pistes métalliques et

la surface de dépôt, qui doit être conductrice, ou comporter un revêtement conducteur ; l'effet de champ (diélectrophorèse) ainsi induit aspire le liquide. Une différence de potentiel plus élevée (au delà du kV) peut induire électronébulisation.

5 Ce processus est réitéré pour chaque ensemble de points de dépôt, suivant une programmation établie par l'utilisateur et ceci tant que le nombre de points pouvant être effectués sans recharge n'est pas atteint. Si le cas se produit, le robot interrompt la tâche de dépôt et reprend celle du chargement en liquide.

REVENDICATIONS

1. Dispositif de dépôt de solutions biologiques comportant au moins un levier plan en silicium présentant un corps central et une région d'extrémité formant une pointe dans laquelle est ménagée une fente ou une rainure, caractérisé en ce qu'il présente au moins une piste métallique ménagée sur une face du corps central et longeant au moins partiellement une dite fente ou rainure.
2. Dispositif selon la revendication 1, caractérisé en ce que la fente ou la rainure s'étend depuis ladite pointe jusqu'à un réservoir ménagé dans le corps central.
3. Dispositif selon la revendication 2, caractérisé en ce que ladite ou lesdites pistes métalliques longent au moins partiellement ledit réservoir.
4. Dispositif selon la revendication 2, caractérisé en ce que le réservoir est une cavité non débouchante ménagée à partir d'une face principale du corps central.
5. Dispositif selon la revendication 2, caractérisé en ce que le réservoir est constitué par une ouverture débouchante ménagée entre deux faces principales opposées du corps central.
6. Dispositif selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'une dite fente ou rainure et/ou un dit réservoir et/ou une dite piste métallique est revêtue de SiO_2 .
7. Dispositif selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le levier présente au moins une région hydrophobe en silicium ou bien en oxyde de silicium revêtu de silane hydrophobe.
8. Dispositif selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il présente au moins une piézorésistance implantée.
9. Dispositif selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le, ou chaque, levier présente au moins un actionneur intégré permettant de contrôler sa flexion.
10. Dispositif selon la revendication 9, caractérisé en ce que ledit actionneur comporte une couche piézoélectrique déposée sur une surface dudit levier.
11. Dispositif selon la revendication 9, caractérisé en ce que ledit actionneur comporte une bilame métallique et une résistance de chauffage déposée sur une surface dudit levier.

12. Procédé de fabrication du dispositif selon une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il met en œuvre :

a) au moins un dépôt d'oxyde de silicium sur une face avant d'un substrat silicium sur isolant présentant une couche isolante enterrée,

5 b) la réalisation pour chaque levier d'au moins une piste métallique.

c) au moins une attaque chimique ou gravure ionique par la face avant du substrat silicium pour définir le contour des leviers, et au moins une fente ou rainure, le contour des leviers étant défini par attaque chimique 10 ou gravure ionique jusqu'à la couche isolante enterrée,

d) une attaque chimique ou gravure ionique par la face arrière du substrat pour enlever y compris la couche isolante enterrée et libérer au moins un levier.

13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que 15 b comporte également :

b1) un deuxième dépôt d'oxyde sur la face avant pour isoler au moins une piste métallique.

14. Procédé selon une des revendications 12 et 13, caractérisé en ce que c comporte une attaque chimique ou gravure ionique 20 jusqu'à la couche isolante enterrée pour définir, outre le contour des leviers, une fente et/ou une ouverture débouchante constituant un réservoir pour au moins un levier.

15. Procédé selon une des revendications 12 à 14, caractérisé en ce que c comporte une première attaque chimique ou gravure 25 ionique du substrat qui est arrêtée avant la couche isolante enterrée pour définir au moins une rainure et/ou une cavité non débouchante formant un réservoir, pour au moins un levier et une deuxième attaque chimique ou gravure ionique du substrat, jusqu'à la couche isolante enterrée pour définir au moins le contour des leviers.

30 16. Procédé selon une des revendications 12 à 15, caractérisé en ce qu'au cours de la première attaque chimique ou gravure ionique, le contour des leviers est défini sur une partie de leur épaisseur.

17. Procédé selon une des revendications 12 à 16, caractérisé en ce que avant a, il est prévu une étape d'implantation d'au 35 moins une piézorésistance.

18. Procédé selon une des revendications 12 à 17, caractérisé en ce qu'il comporte également une étape de dépôt d'un actionneur intégré.

19. Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que 5 ladite étape de dépôt d'un actionneur intégré comporte le dépôt par pulvérisation cathodique d'un film piézoélectrique de $PbZrO_3/PbTiO_3$.

20. Procédé selon la revendication 19, caractérisé en ce que ledit film piézoélectrique est isolé du liquide par une couche en un matériau choisi entre : oxyde de silicium, PTFE dit « Téflon », un polymère.

10 21. Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que ladite étape de dépôt d'un actionneur intégré comporte le dépôt chimique à basse pression (LPCVD) d'une couche de Si_3N_4 suivie par un dépôt par évaporation d'une couche de Cr et d'une couche de Au pour réaliser une résistance de chauffage, formant ainsi une bilame métallique.

15 22. Procédé de prélèvement d'au moins une solution biologique utilisant un dispositif selon une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce que le prélèvement et la rétention de ladite solution biologique sont assistés par effet de champ électrique en appliquant une différence de potentiel entre les dites pistes métalliques.

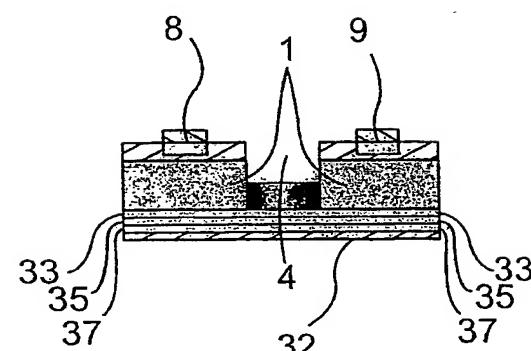
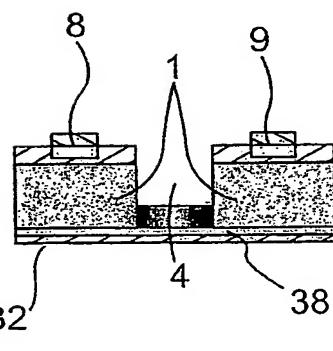
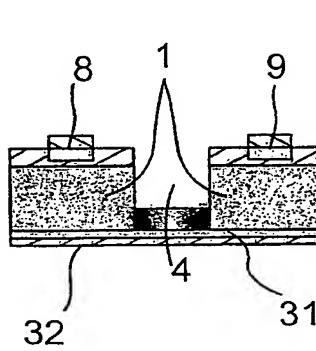
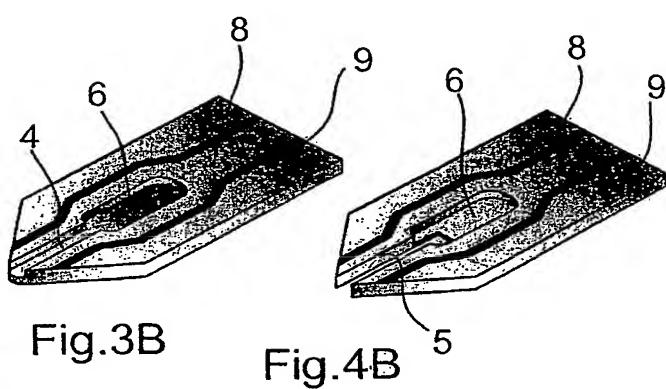
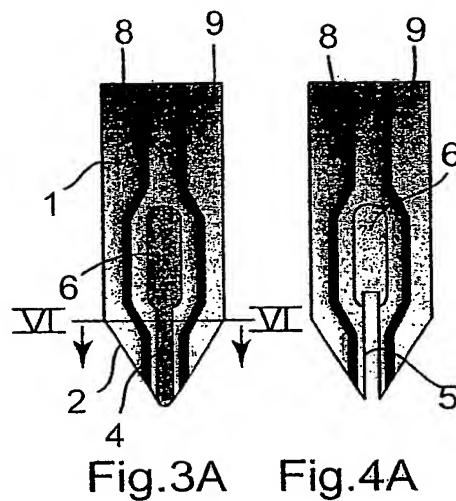
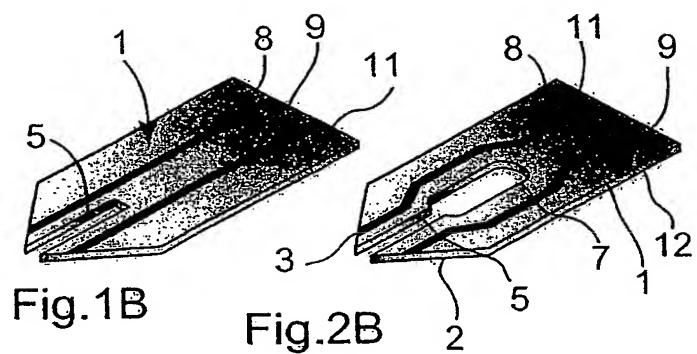
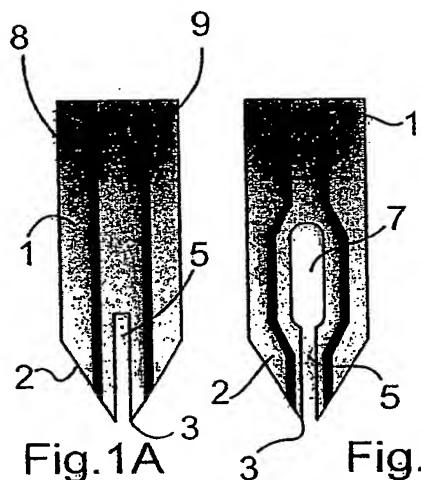
20 23. Procédé de dépôt d'au moins une solution biologique utilisant un dispositif selon une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce que le dépôt de ladite solution biologique est assisté par effet de champ électrique en appliquant une différence de potentiel entre lesdites pistes métalliques, qui sont maintenues au même potentiel, et une surface de dépôt 25 comportant au moins une couche conductrice.

24. Procédé de prélèvement d'au moins une solution biologique utilisant un dispositif selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'une mesure de la variation de la résistance électrique de ladite piézorésistance est effectuée après le prélèvement pour déterminer la 30 quantité de solution biologique prélevée.

25. Procédé de dépôt d'au moins une solution biologique utilisant un dispositif selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'une mesure de la variation de la résistance électrique de ladite piézorésistance est effectuée après le dépôt pour déterminer la quantité de solution biologique 35 déposée.

26. Procédé de dépôt par contact d'au moins une solution biologique utilisant une rangée de dispositifs selon les revendications 8 et 9, caractérisé en ce que la force de contact de chaque levier avec la surface de dépôt est déterminée par une mesure de la variation de la résistance électrique de chaque piézorésistance implantée et contrôlée activement par chaque actionneur intégré.

1/5



FEUILLE DE REMPLACEMENT (REGLE 26)

2/5

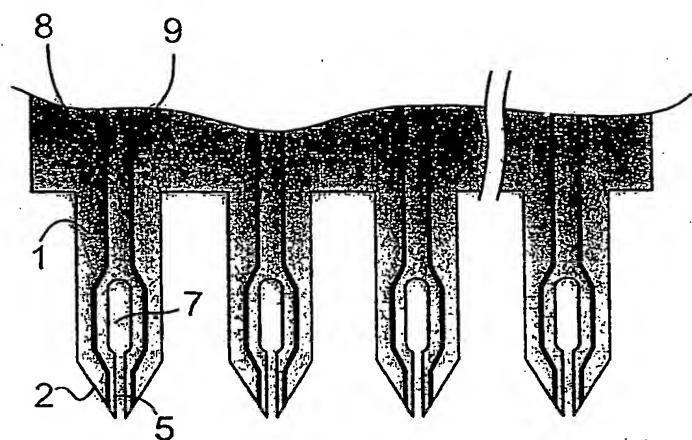


Fig.7A

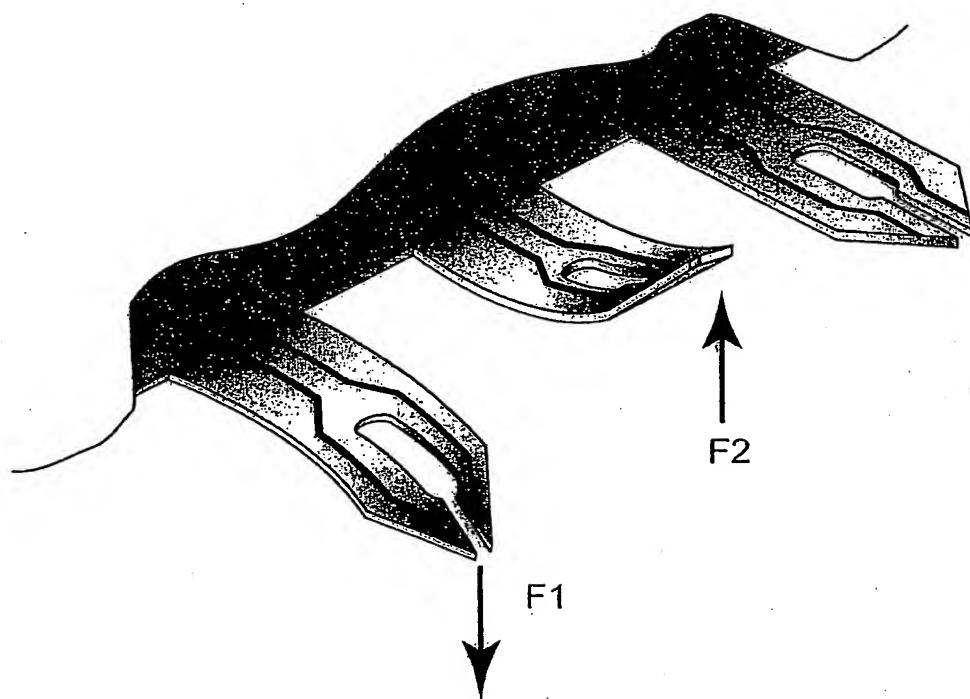
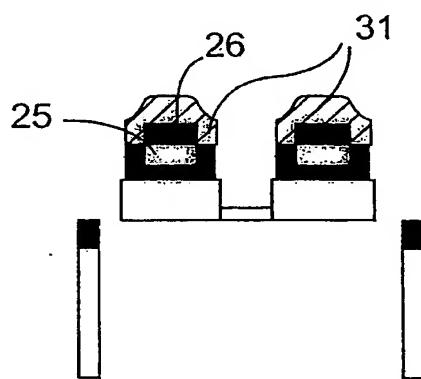
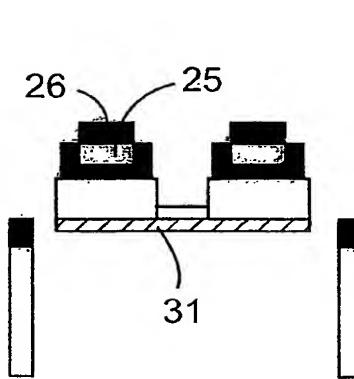
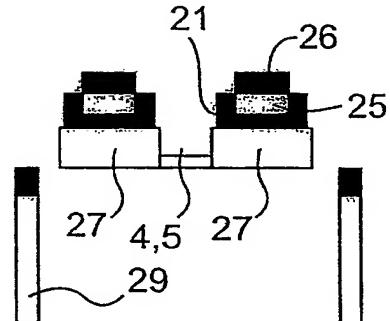
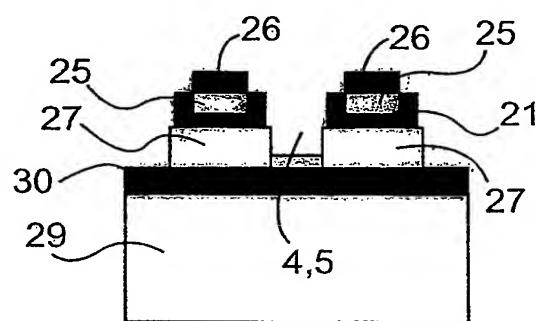
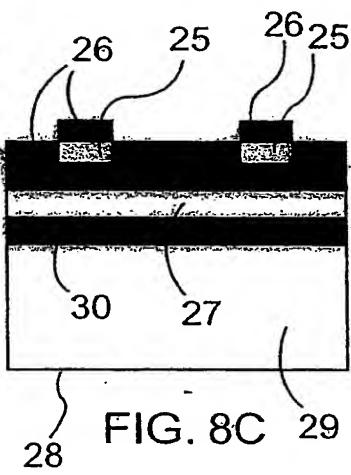
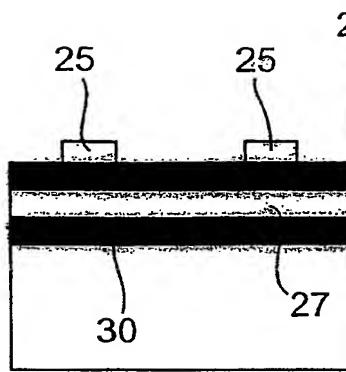
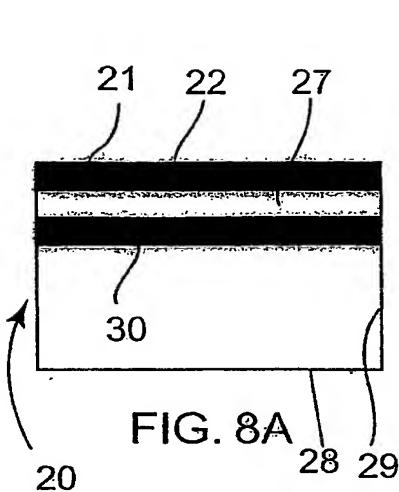


Fig.7B

3/5



4/5

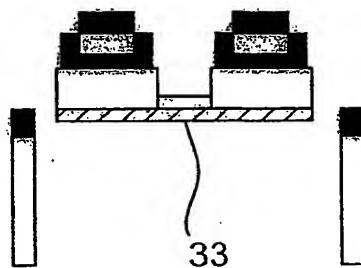


FIG. 8H

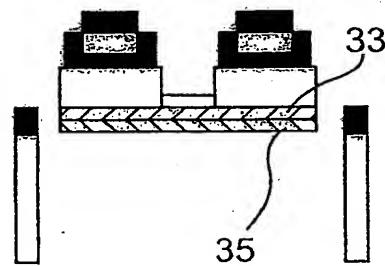


FIG. 8I

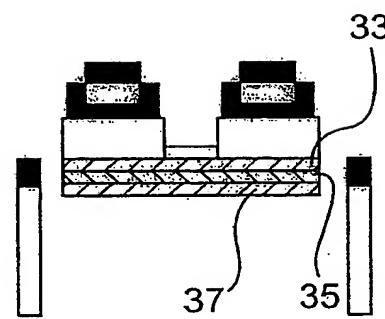


FIG. 8J

5/5

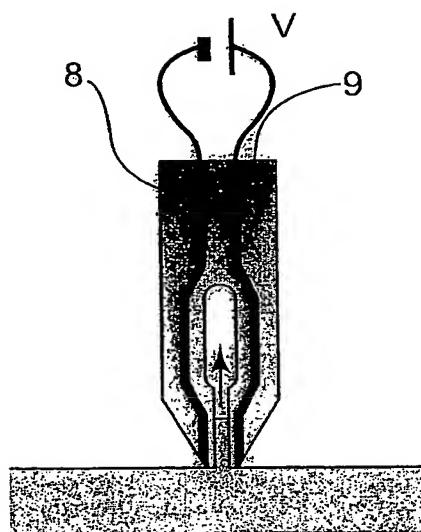


FIG. 9A

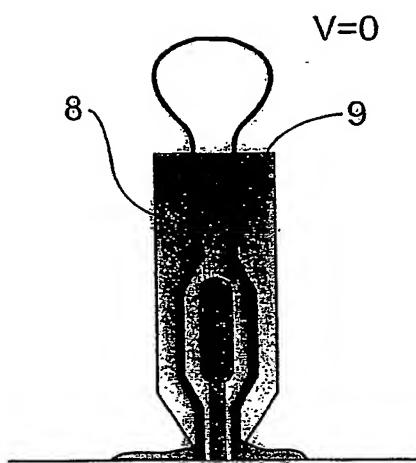


FIG. 9B

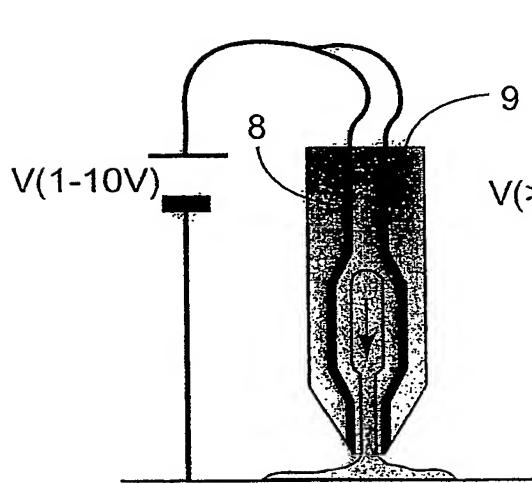


FIG. 9C

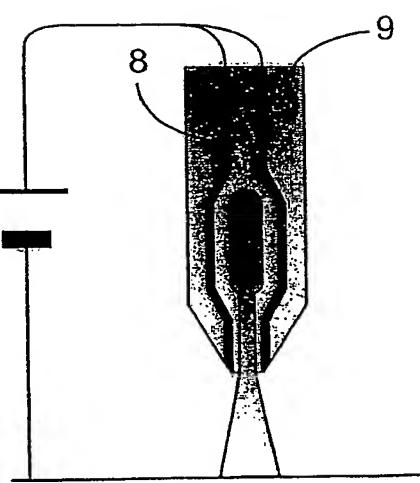


FIG. 9D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/01481

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01L3/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B41J F04B B05B B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 725 267 A (ROSSENDORF FORSCHZENT) 7 August 1996 (1996-08-07) figures 1-5 column 4, line 21 -column 5, line 2 column 5, line 24 - line 36 ---	1-26
A	US 6 179 584 B1 (BURGER MARIO ET AL) 30 January 2001 (2001-01-30) figures 8,9 column 4, line 34 - line 46 column 5, line 23 - line 50 ---	1-26
A	DE 198 47 421 A (EASY LAB GMBH) 20 April 2000 (2000-04-20) figure 1 abstract ---	1-26

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the International filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

14 October 2003

Date of mailing of the International search report

21/10/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL-2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Wyplosz, N

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/01481

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2002/003177 A1 (DANTSKER EUGENE ET AL) 10 January 2002 (2002-01-10) figures 1-3 paragraphs '0045!-'0053! ---	1-26
A	WO 01 03837 A (ELMES STUART ANTONY ;MOORE DAVID FRANK (GB); UNIV CAMBRIDGE TECH () 18 January 2001 (2001-01-18) figure 3 ---	1-26
A	WO 02 00348 A (RENNE IND B V ;ELDERS JOB (NL); BURGER GERARDUS JOHANNES (NL); SPI) 3 January 2002 (2002-01-03) page 5, line 8 - line 15; figure 3 page 6, line 15 - line 20 page 7, line 18 - line 20 ---	1-26
A	US 6 101 946 A (MARTINSKY RICHARD S) 15 August 2000 (2000-08-15) figure 3 column 4, line 46 - line 57 column 6, line 50 - line 57 ---	1-26
A	DE 199 33 838 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT ;KARLSRUHE FORSCHZENT (DE)) 1 February 2001 (2001-02-01) figures 1-5 abstract ---	1-26
A	WO 00 25923 A (DAVIES MARTIN CLEMENT ;ELMES STUART ANTONY (GB); MILNE WILLIAM IRE) 11 May 2000 (2000-05-11) figures 8-12 page 5, line 8 -page 6, line 21 ---	1-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 03/01481

Patent document cited in search report	Publication date		Patent family member(s)		Publication date
EP 0725267	A 07-08-1996	AT WO DE DK EP	173539 T 9624040 A2 59600820 D1 725267 T3 0725267 A2		15-12-1998 08-08-1996 24-12-1998 02-08-1999 07-08-1996
US 6179584	B1 30-01-2001	AT WO DE EP JP	218194 T 9826179 A1 59707378 D1 0956449 A1 2001505640 T		15-06-2002 18-06-1998 04-07-2002 17-11-1999 24-04-2001
DE 19847421	A 20-04-2000	DE	19847421 A1		20-04-2000
US 2002003177	A1 10-01-2002	AU WO	4754401 A 0171311 A2		03-10-2001 27-09-2001
WO 0103837	A 18-01-2001	EP WO	1194239 A1 0103837 A1		10-04-2002 18-01-2001
WO 0200348	A 03-01-2002	NL AU WO	1015523 C1 6960901 A 0200348 A1		28-12-2001 08-01-2002 03-01-2002
US 6101946	A 15-08-2000	NONE			
DE 19933838	A 01-02-2001	DE WO EP	19933838 A1 0105506 A1 1207960 A1		01-02-2001 25-01-2001 29-05-2002
WO 0025923	A 11-05-2000	EP GB GB WO	1126915 A1 2360957 A ,B 2375315 A 0025923 A1		29-08-2001 10-10-2001 13-11-2002 11-05-2000

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 03/01481

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 B01L3/02

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 B41J F04B B05B B01L

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP 0 725 267 A (ROSSENDORF FORSCHZENT) 7 août 1996 (1996-08-07) figures 1-5 colonne 4, ligne 21 -colonne 5, ligne 2 colonne 5, ligne 24 - ligne 36 ---	1-26
A	US 6 179 584 B1 (BURGER MARIO ET AL) 30 janvier 2001 (2001-01-30) figures 8,9 colonne 4, ligne 34 - ligne 46 colonne 5, ligne 23 - ligne 50 ---	1-26
A	DE 198 47 421 A (EASY LAB GMBH) 20 avril 2000 (2000-04-20) figure 1 abrégé ---	1-26

 Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *&* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

14 octobre 2003

21/10/2003

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Wyplosz, N

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 03/01481

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 2002/003177 A1 (DANTSKER EUGENE ET AL) 10 janvier 2002 (2002-01-10) figures 1-3 alinéas '0045!-'0053! ---	1-26
A	WO 01 03837 A (ELMES STUART ANTONY ; MOORE DAVID FRANK (GB); UNIV CAMBRIDGE TECH () 18 janvier 2001 (2001-01-18) figure 3 ---	1-26
A	WO 02 00348 A (RENNE IND B V ; ELDERS JOB (NL); BURGER GERARDUS JOHANNES (NL); SPI) 3 janvier 2002 (2002-01-03) page 5, ligne 8 - ligne 15; figure 3 page 6, ligne 15 - ligne 20 page 7, ligne 18 - ligne 20 ---	1-26
A	US 6 101 946 A (MARTINSKY RICHARD S) 15 août 2000 (2000-08-15) figure 3 colonne 4, ligne 46 - ligne 57 colonne 6, ligne 50 - ligne 57 ---	1-26
A	DE 199 33 838 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT ; KARLSRUHE FORSCHZENT (DE)) 1 février 2001 (2001-02-01) figures 1-5 abrégé ---	1-26
A	WO 00 25923 A (DAVIES MARTIN CLEMENT ; ELMES STUART ANTONY (GB); MILNE WILLIAM IRE) 11 mai 2000 (2000-05-11) figures 8-12 page 5, ligne 8 -page 6, ligne 21 ---	1-26

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 03/01481

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication		Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0725267	A	07-08-1996	AT WO DE DK EP	173539 T 9624040 A2 59600820 D1 725267 T3 0725267 A2	15-12-1998 08-08-1996 24-12-1998 02-08-1999 07-08-1996
US 6179584	B1	30-01-2001	AT WO DE EP JP	218194 T 9826179 A1 59707378 D1 0956449 A1 2001505640 T	15-06-2002 18-06-1998 04-07-2002 17-11-1999 24-04-2001
DE 19847421	A	20-04-2000	DE	19847421 A1	20-04-2000
US 2002003177	A1	10-01-2002	AU WO	4754401 A 0171311 A2	03-10-2001 27-09-2001
WO 0103837	A	18-01-2001	EP WO	1194239 A1 0103837 A1	10-04-2002 18-01-2001
WO 0200348	A	03-01-2002	NL AU WO	1015523 C1 6960901 A 0200348 A1	28-12-2001 08-01-2002 03-01-2002
US 6101946	A	15-08-2000	AUCUN		
DE 19933838	A	01-02-2001	DE WO EP	19933838 A1 0105506 A1 1207960 A1	01-02-2001 25-01-2001 29-05-2002
WO 0025923	A	11-05-2000	EP GB GB WO	1126915 A1 2360957 A ,B 2375315 A 0025923 A1	29-08-2001 10-10-2001 13-11-2002 11-05-2000

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE IS BLANK (乞う) (This page is blank)